干酪乳杆菌对农家干酪抗氧化活性及在其模拟胃肠道中存活能力的研究

马赛荣[1]，李晓东[1,2]，王春潮[1]，赵伟丽[1]，张秀秀[1]，周虹[1]
（1.乳品科学教育部重点实验室，东北农业大学食品学院，黑龙江哈尔滨 150030）
（2.东北农业大学食品安全与营养协同创新中心，黑龙江哈尔滨 150030）

摘要：本研究利用向农家干酪加入干酪乳杆菌的方式，研究农家干酪的抗氧化活性及在模拟胃肠道中乳酸菌的存活能力。通过对 DPPH 自由基、羟自由基的清除的能力以及对铁的还原能力指标的测定，利用 PH 4.6-SN 及 12%TCA-SN 进行抗氧化活性分析。结果表明：在第 30 d 时，DPPH 自由基的清除能力达到最高值，为 316 μM Trolox，还原能力为 0.647；羟自由基的清除率在第 25 d 时最高达到 54.38%，在第 30 d 时有所下降。在对第 20 d 的农家干酪的水溶性提取液的冷冻干燥粉进行抗氧化活性的评价时，抗氧化活性得到提高；综上所述，添加干酪乳杆菌的农家干酪在储藏期内抗氧化活性显著增强。选择第 20 d 的农家干酪进行模拟胃肠道的存活能力研究，发现活菌数降低了 5 $\log_{10}$ cfu/g，最终为 7 $\log_{10}$ cfu/g，可起到益生作用。因此，加入干酪乳杆菌显著提高农家干酪抗氧化活性，农家干酪可以起到益生作用。

关键词：干酪乳杆菌；抗氧化；农家干酪；存活能力
文章篇号：1673-9078(2016)12-86-92 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.014

Effect of Cottage Cheese Containing *Lactobacillus casei* on the Antioxidant Activity and Survival in Simulated Gastrointestinal Conditions

MA Sai-rong[1], LI Xiao-dong[1,2], WANG Chun-chao[1], ZHAO Wei-li[1], ZHANG Xiu-xiu[1], ZHOU Hong[1]
(1.Laboratory of Dairy Science of Ministry of Education, College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China) (2.Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Cottage cheese containing *Lactobacillus casei* was produced to study its antioxidant activity and the viability of *L. casei* under simulated gastrointestinal conditions. The antioxidant activity was measured based on the capacity for scavenging DPPH and hydroxyl radicals and the ferric-reducing ability, which were analyzed using PH4.6-SN and 12% TCA-SN. The results show that on the 30th day, the DPPH-scavenging capacity reached the highest value, equivalent to 316 μM Trolox, and the reducing power was 0.647. The highest value for the scavenging of hydroxyl radicals was 67.45%, which was achieved on the 25th day, but decreased on the 30th day. The freeze-dried powder of the water-soluble extract showed increased antioxidant activity on the 20th day. In conclusion, the antioxidant activity of cottage cheese containing *L. casei* increased significantly during storage. Under conditions that simulated the gastro-intestinal tract, the viability of probiotic bacteria in cottage cheese decreased by 5 $\log_{10}$cfu/g and eventually reached 7 $\log_{10}$cfu/g, thus producing a beneficial effect. Therefore, adding *L. casei* could significantly increase the antioxidant activity of cottage cheese and have a beneficial effect.

Key words: *Lactobacillus casei*; antioxidant activity; cottage cheese

现在许多的疾病如癌症、糖尿病和衰老等均与由自由基带来的氧化损伤有关。大量研究表明，乳源抗氧化肽的获取是一种重要的途径。干酪乳杆菌 CEP-2 水解 β-酪蛋白对 $O_2^{-}\cdot$具有清除能力[1]。Chang O K 和 Seol K H 等人[2]利用双歧杆菌水解酪蛋白，从水解产物中发现 2 种具有抗氧化性多肽。Meira 等[3]研究发现不同类型 Feta 干酪的抗氧化活性（ABTS）为 32%~45%，不同类型 Roquefort 干酪为 87%。这些研究说明酪蛋白可以产生抗氧化肽，干酪同样在乳酸菌的作用下产生抗氧化肽。

农家干酪是一种以脱脂牛奶为原料生产的软质、

收稿日期：2015-12-28
基金项目：黑龙江省教育厅面上项目(12541027)；黑龙江省高校科技成果产业化前期研发培育项目
作者简介：马赛荣(1989-)，女，硕士研究生，研究方向：食品科学
通讯作者：李晓东，博士，教授，博士生导师

非成熟型干酪，味道爽口、新鲜，具有柔和的酸味及香味。它不但具有干酪的巨大的营养价值，而且脂肪和胆固醇含量特别低，迎合了现代人们对低脂的要求。除此之外，干酪的营养物质有助于益生菌的生存、干酪独特的结构对处食道中的益生菌具有保护作用。乳酸菌常作为附属发酵剂在干酪的制作过程中添加，但是干酪成品的活菌数不高（8 $\log_{10}$cfu/g）。乳酸菌具有复杂的酶系统，可将乳蛋白水解成短肽，进一步将短肽水解为氨基酸或更小的肽类。所以大量的乳酸菌可以促进蛋白质的水解进度。而很多试验表明[5]适当增大蛋白的分解度可以提高抗氧化能力。因此可以尝试添加乳酸菌来解决干酪的抗氧化性问题。

本试验旨在采用向农家干酪添加干酪乳杆菌的方法提高农家干酪的抗氧化性。通过对 DPPH 自由基、羟自由基的清除以及还原力的测定，对农家干酪的水溶性提取液以及相应冷冻干燥成的多肽粉进行抗氧化评价，并分析 PH 4.6-SN 和 12% TCA-SN 对农家干酪的抗氧化性的影响。除此之外，还分析了含高量干酪乳杆菌的农家干酪在储藏期内以及在模拟胃肠道条件下活菌的存活能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料

干酪乳杆菌 KLDS1.0319 来自东北农业大学乳品重点实验室的菌种库；发酵剂和凝乳酶 Stamix 1150 来源于丹尼斯克公司；DPPH 和铁氰化钾等试剂均为分析纯；模拟唾液：100 U/mL 的 α-淀粉酶添加到 1 mM 的 $CaCl_2$ 中，用 1 M 的 $NaHCO_3$ 调节 pH 到 6.9；模拟胃液：25 mg/mL 的胃蛋白酶加入到 0.1 N 的 HCL 中；十二指肠液：2 g/L 的胰液素和 12 g/L 的牛胆盐添加到 0.1 M 的 $NaHCO_3$ 中。

1.2 试验仪器

JD500-2 电子天平(沈阳龙腾电子称量仪器有限公司)；85-2 恒温磁力加热搅拌器（常州国华电器有限公司）；数显恒温水浴箱（上海比朗仪器有限公司）；离心机（上海卢湘仪离心机仪器有限公司）；UT-1800 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)；GL-20G-Ⅱ高速冷冻离心机；SYQ-DSX-280B 手提式蒸汽灭菌锅等。

1.3 试验方法

1.3.1 菌悬液的制备

参考宋晓辰[6]的方法，将干酪乳杆菌活化，传代 3 次后，3%接种于 100 mL 的 MRS 液体培养基，37 ℃培养。取对数期的菌体培养基，经 4000 r/min，4 ℃离心 10 min，收集菌体沉淀，经无菌去离子水洗涤两次，收集菌体。然后加入生理盐水，制成 10 mL 的菌悬液，于 4 ℃条件下冷藏备用。

1.3.2 农家干酪的制作

脱脂乳（巴氏灭菌：63~65 ℃，30 min）→降温至 32 ℃→发酵剂（3%，1 h）→氯化钙（0.02%）→凝乳酶（0.003%，1 h）→切割（pH 4.6~4.7、1 cm^3）→静置 30 min→加热搅拌（初期 31~38 ℃，20 min；中期，38~43 ℃，15 min；43~57 ℃，10 min）→排乳清→PH 5.5 的水洗（第一次，26 ℃，$V/V_{乳}$=1，15 min；第二次，10~15 ℃，$V/V_{乳}$=3/4，15 min；第三次 2~5 ℃ $V/V_{乳}$=1/2，15 min）→沥干→拌盐（1%）→加入菌悬液→稀奶油→储藏（4 ℃）

空白组：不添加菌体悬液，试验组 1：添加 5 mL 的菌悬液，试验组 2：添加 10 mL 的菌悬液

1.3.3 农家干酪的基本成分测定

蛋白质含量测定：根据 GB 5009.5-2010；

脂肪含量测定：根据 GB 5413.3-2010；

水分含量测定：根据 GB 5009.3-2010；

氯化钠含量测定：GB/T 12457-2008；

pH 值：干酪与去离子水在无菌条件下以 1:2 的比例均匀混合，用 pH 值计测定。

1.3.4 水溶性提取液及多肽粉的制备

根据 Kuchroo and Fox[7]的方法稍作改变，制备水溶性提取物。准确称取 30 g 的干酪样品，加入 90 g 的生理盐水。使用匀浆机，以 1000 r/min 的速度均质 2 min，此悬浮液在 40 ℃条件下放置 30 min。将其余的溶液在 4 ℃条件下以 5000 r/min 的转速离心 30 min，以及通过 20~25 μm 的定性滤纸过滤，可以除去层脂肪与下层沉淀物酪蛋白。将提取溶液通过冷冻干燥制成粉末，在-20 ℃条件下保存。

1.3.5 抗氧化能力的测定

1.3.5.1 铁还原能力的测定

根据 Xiao[8]的方法进行铁还原能力测定。

1.3.5.2 羟自由基清除率的测定

根据 Li[9]的方法进行羟自由基清除能力测定。

1.3.5.3 DPPH 自由基清除能力的测定

使用 Shimada[10]的方法评估 DPPH 自由基清除能力。25 mg/L 的 DPPH 甲醇溶液。测定在 517 nm，30 min 内使用紫外分光光度计测定吸光度，以 Trolox 做标准曲线。

1.3.6 在储藏期内农家干酪益生菌的存活能力测定

根据 Tharmaraj[11]的方法。取 25 g 的农家干酪，

加入 225 g 的蛋白胨水（1 g/L），使用 1000 r/min 的匀浆机搅拌 1 min。取 0.1 mL，稀释涂布于 MRS 固体培养基，37 ℃培养 72 h，进行菌落计数(log_{10}cfu/g)。

1.3.7 在模拟胃肠道条件下农家干酪益生菌存活能力测定

参考 de Oliveira[12]的方法，进行模拟胃肠道条件下的存活能力测定。

1.3.8 PH 4.6-SN 与 12% TCA-SN 的测定

1.3.8.1 进行 PH 4.6-SN 的测定

准确称取 80 g 干酪，加入 160 mL pH 值为 4.6 的醋酸盐缓冲液，搅拌均匀，60 ℃下保温 1 h，将悬浮液在 4000 r/min 条件下离心 20 min，取中层清液定量地移入消化瓶，进行凯氏定氮(GB/T 5009.5-2003)，结果以占干酪总氮量的百分数表示。

$$\text{PH4.6}-\text{SN}=\frac{\text{pH4.6可溶性氮含量}}{\text{总氮含量}}$$

1.3.8.2 进行 12% TCA-SN 的测定

取上述中层清液 16 mL，加入 4 mL 的 12% TCA 溶液（*m/V*），混合静置 1 h 后离心处理(4000 r/min，20 min)，取上清液 10 mL 移入凯氏消化瓶，进行凯氏定氮(GB/T 5009.5-2003)。

$$12\%\text{TCA}-\text{SN}=\frac{12\%\text{TCA可溶性氮含量}}{\text{总氮含量}}$$

1.4 数据分析

每个试验重复三次，结果表示为平均数±SD。数据统计分析采用 Statistix 8.0 (分析软件，St Paul，MN) 软件包中 Linear Models 程序进行数据分析，使用 Tukey HSD 程序差异显著性(p<0.05)分析。采用 Sigmaplot12.5 软件作图，SPSS Statistix 17.0 对 IC_{50} 值进行分析。

2 结果与讨论

2.1 农家干酪的基本成分分析

结果见表 1。

表 1 农家干酪的基本成分分析

Table 1 Proximate analysis of cottage cheese

组别	蛋白质/%	水分/%	脂肪/%	NaCl/%	pH
空白组	16.29±0.12^a	69.32±0.35^a	4.03±0.09^a	1.11±0.22^a	4.9±0.06^a
试验组 1	16.12±0.15^a	69.74±0.62^a	3.97±0.03^a	1. 03±0.21^a	4.9±0.21^a
试验组 2	16.04±0.13^a	69.70±0.59^a	4.07±0.20^a	1. 13±0.17^a	4.8±0.17^a

注：数据表示为平均值±标准差(n=3)。a~c 在同一列字母中，相同则表示差异不显著(p≥0.05)，不同则表示差异显著(p<0.05)。

由表 1 可知，对照组和各试验组干酪的水分、脂肪、蛋白质、盐含量和 pH 值均符合农家干酪的要求。而且对照组和各试验组的各组成成分差异不显著(p≥0.05)，这说明干酪样本对后期的抗氧化性研究以及蛋白质分解程度不存在显著影响。

2.2 在储藏期内农家干酪益生菌的存活能力测定

干酪益生菌的存活能力测定结果见图 1。

由图 1 看出，由于添加了干酪乳杆菌，使得这种益生菌干酪的活菌数量明显比空白组的要多。第 10 d，组 2 的活菌数为最高达到 12.53 log_{10}cfu/g；第 15 d，组 1 为最高达到 11.45 log_{10}cfu/g，空白组为最高达到 9.93 log_{10}cfu/g。试验组比空白组要早进入衰退的阶段，基本在 15 或者 20 d 后进人了衰亡期。相较于其他的益生菌干酪，本次试验的空白组的活菌数明显要高[13]。由试验样品对比发现，干酪乳杆菌接入农家干酪后具有一定的存活能力，农家干酪可以作为一种优良的益生菌载体。

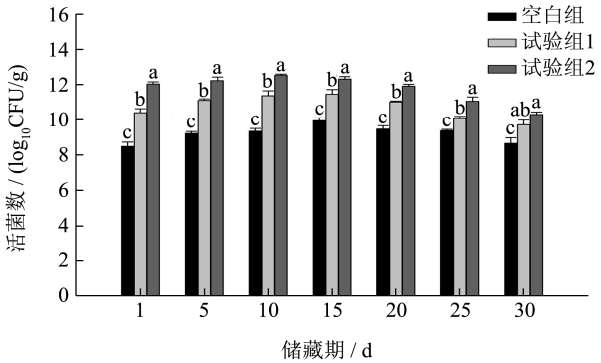


图 1 农家干酪中乳酸菌的活菌数在储存时间内的变化

Fig.1 Number of viable bacteria in cottage cheese during storage

2.3 农家干酪的抗氧化活性研究

2.3.1 农家干酪在储藏期间内的抗氧化活性研究

抗氧化性测定见图 2A、图 2B 和图 2C。

由图 2A 看出，吸光度随储藏时间的变化是先上升后减缓的过程。空白组的吸光度与试验组呈现显著差异（p<0.05）。组 2 的吸光度在第 30 d 时最高，为

0.647，比最初提高了 3 倍，比空白提高了 59.21%。Himalayan[14]干酪放入 4 ℃冰箱时，在第 20 d 得到的水溶性提取物的还原力为 0.339。本次试验组产生还原力的吸光度最高为 0.647，在第 20 d 时的吸光度为 0.485；所以还原能力较高。

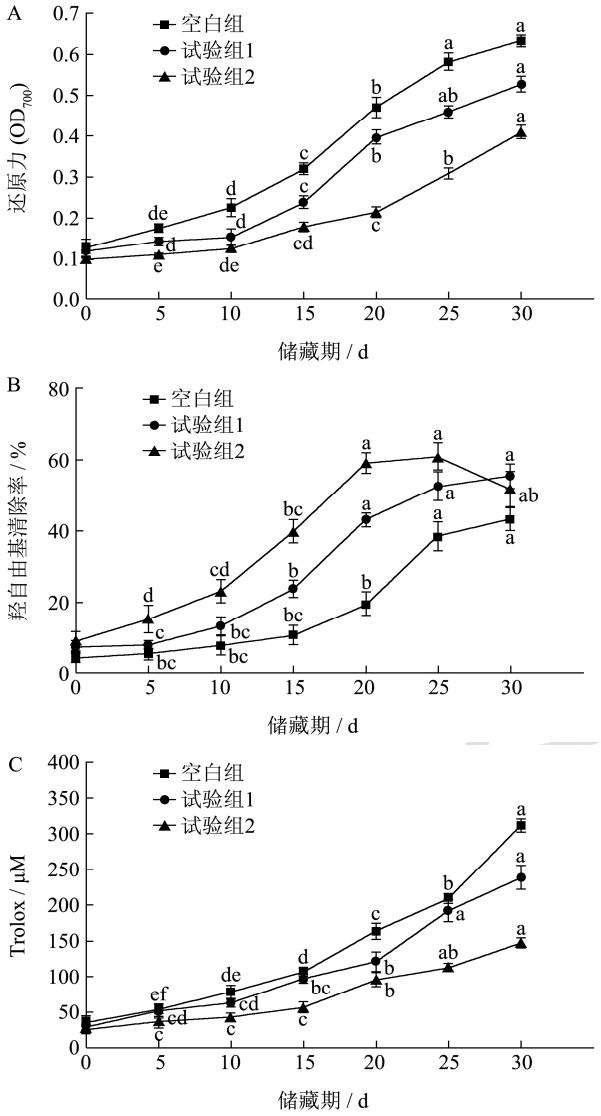


图 2 还原能力、羟自由基清除率和 DPPH 自由基的清除能力随储藏期的变化

Fig.2 Changes in reducing power, hydroxyl radical scavenging activity and DPPH radical scavenging activity during storage

由图 2B 看出，羟基的清除在储藏期内是逐渐增强的。空白组与试验组的羟自由基清除率呈现显著差异（p<0.05）。空白组最终为 41.47%，试验组最高为 54.38%。两个试验组提高了 28%。这说明，大量干酪乳杆菌的加入有利于干酪的抗氧化性物质的产生，而且对羟自由基的清除率比较高。有试验[15]研究酪蛋白的分解产物，分子量低于 3 ku 的抗氧化肽羟自由基清除活性较强，可见羟自由基的清除与肽的分子量有很大的关系。

图 2C 显示，空白组与试验组对 DPPH 的清除能力差异性显著（p<0.05）。空白组对 DPPH 自由基的清除由 13 μM 到 148.5 μM Trolox。在第 30 d 时，组 2 的 DPPH 清除能力为 316 μM Trolox。相对于空白组，试验组最终提高了 120%。空白组对 DPPH 清除能力提高的比较缓慢。可见添加益生菌对农家干酪的 DPPH 自由基清除有积极作用。研究显示 DPPH 的清除能力一定程度上与蛋白质的水解程度呈现一种相关性[4]。干酪的蛋白质在后期的水解程度较大，因此 DPPH 的清除能力增强

2.3.2 多肽粉的抗氧化性研究

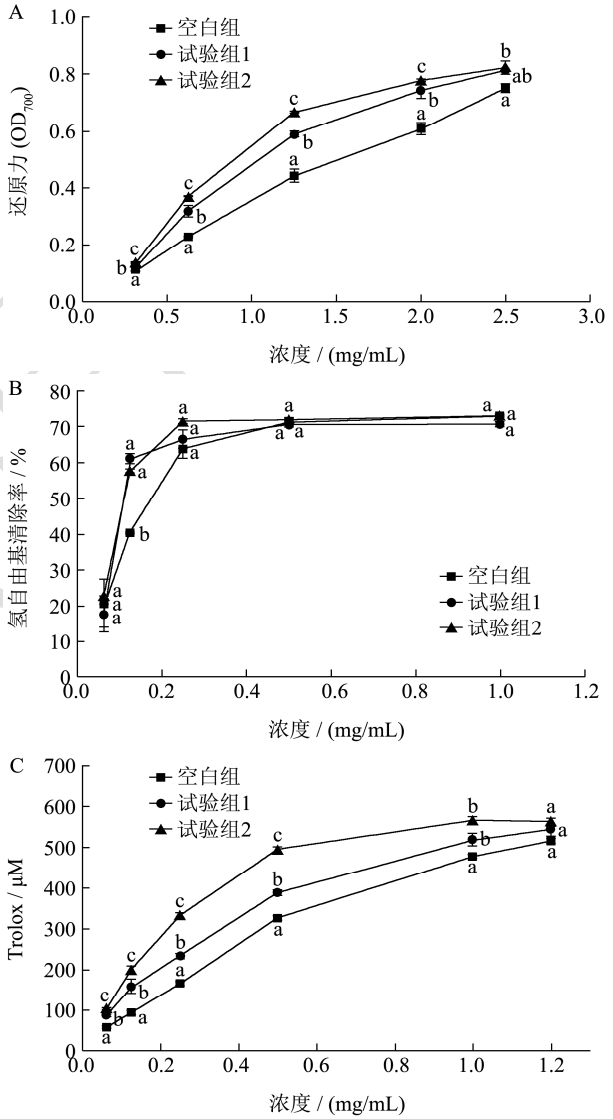


图 3 还原能力、羟自由基清除率和 DPPH 自由基的清除能力的变化曲线

Fig.3 Curves of reducing power, hydroxyl radical scavenging activity and DPPH radical scavenging activity

对多肽粉的抗氧化性研究，可以选取干酪在 20 天时的水溶性提取液的冷冻干燥粉末进行抗氧化性研究。多肽粉溶解到 70%乙醇，再对溶解液梯度稀释制

成多肽溶液，测定抗氧化性。结果见图 3A、图 3B 和图 3C。多肽溶液的抗氧化活性的 IC_{50} 值见表 2。

由图 3A 可知，试验组的还原能力与空白组差异化显著（p<0.05）。在多肽溶液浓度为 0.3125~5.000 mg/mL 的范围内，组 2 从 0.130 至 0.821；而空白组从 0.110~0.737。随浓度的增加，Fe^{2+}的还原能力增大。空白组和组 2 在浓度为 1.25 mg/mL 时，差距达到 0.224；与组 1 差距达到 0.148（p<0.05）。

由图 3B 可知，试验组的羟自由基的清除能力与空白组的差异化显著（p<0.05）。在多肽溶液浓度为 0.0625~1.000 mg/mL 的范围内，羟自由基的清除率从 14.40%~72.63%。随浓度的增加，羟自由基的清除能力增大。

由图 3C 可知，试验组和空白组展现出一种很好的 DPPH 的清除能力，而且两者显示显著差异（p<0.05）。浓度在 0.0625~1.000 mg/mL 时，空白组对 DPPH 中自由基的清除能力为 54.81~515.84 μM Trolox。而试验组对 DPPH 中自由基的清除能力为 102.17~575.40 μM Trolox。随浓度的增加，对 DPPH 自由基的清除能力增大。

表 2 IC_{50} 值：农家干酪提取液的多肽溶液的抗氧化性研究

Table 2 IC_{50} values: antioxidant capacity of peptide solution from cottage cheese

	IC_{50} 值/(mg/mL)		
	空白组	试验组 1	试验组 2
DPPH 法	1.127±0.052^a	0.963±0.017^b	0.690±0.161^c
还原力（A_{700nm}）	1.668±0.003^a	1.203±0.003^b	1.045±0.003^c
羟自由基清除率/%	0.207±0.003^a	0.162±0.002^b	0.143±0.003^c

注：IC_{50}值：DPPH法：对DPPH内自由基的清除相当于500 μM的Trolox时，多肽粉的浓度；还原力：在吸光度为0.5时，多肽粉的浓度；羟自由基清除率（%）：羟自由基清除率为50%时，多肽粉的浓度；数据表示为平均值±标准差(n=3)；a~c在同一列字母中，相同则表示差异不显著(p≥0.05)，不同则表示差异显著(p<0.05)。

从表2中，试验组2的IC_{50}值，分别相对应为0.690，1.045及0.143。试验组的多肽粉的抗氧化能力比空白组显著增强（p<0.05），而且与干酪中菌体的浓度有很大的相关性。与Yu Xiao[8]研究的植物乳杆菌对大豆蛋白的发酵产物的抗氧化性相比，在羟自由基清除能力上没有存在优势，而在还原能力方面较强。研究说明，多肽的还原性、羟自由基的清除与多酚含量及种类有很大的关系[16]。对于多肽粉的成分需要通过离子交换色谱等方式进一步的分析与纯化，提高它的抗氧化性。

2.4 在模拟胃肠道条件下农家干酪益生菌的存活能力测定

益生菌的存活能力测定结果见图 4。

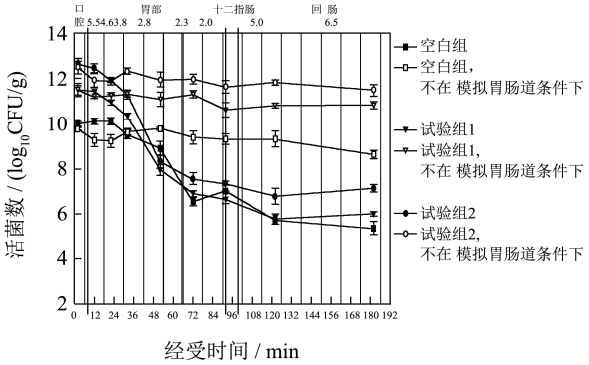


图 4 所有农家干酪在模拟胃肠道试验中的活菌数变化

Fig.4 Viable cell counts (mean ± standard deviation) of cottage cheese exposed to simulated gastrointestinal conditions for different incubation times

图 4 显示，组 2 农家干酪在第 2 min 时的活菌数与开始时不显著（p≥0.05），这说明在口腔内，干酪益生菌活性没有受到 α-淀粉酶及 pH 的影响。pH 在 2.8 内时，组 2 的活菌数下降非常明显（p<0.05），由 11.97~8.32 log_{10}cfu/g。十二指肠内，组 2 的活菌数下降明显（p<0.05）。而在回肠内，由于 pH 达到 6.5 接近中性，对益生菌的活菌数影响不大，为 7.53 log_{10}cfu/g。组 1 在胃和十二肠的部位，产生与组 2 相似的情况。空白组在 pH 2.3 内活菌数下降明显（p<0.05）。在十二指肠内下降显著，由 7.01~5.70 log_{10}cfu/g(p<0.05)。在回肠内最终达到 5.36 log_{10}cfu/g。

从图 4 中看出，在模拟的胃和十二肠部分，干酪中的活菌数下降的最明显，口腔对干酪中益生菌存活影响不大。pH 在 2.0 内时，空白组活菌数下降的明显；等 pH 达到 5.0 时，活菌数有一定的上升。有试验分析，可能由于胃酸的刺激使得一些细胞假死亡，当 pH 上升后一些细胞恢复过来[17]。而在十二指肠内，活菌数下降没有再恢复，是因为胆盐对活菌的伤害比较大[18]。通常认为抵达肠道内的益生菌数在 7 log_{10}cfu/g 以上时，就会粘附在的肠道细胞上，发挥其益生作用

2.5 PH4.6-SN 和 12%TCA-SN 对农家干酪的抗氧化活性的影响

农家干酪的抗氧化性分析结果见图 5a 和图 5b。

从图 5a 和 b 中看出，PH4.6-SN、12% TCA-SN 在储藏期间内是上升的。初始 PH4.6-SN 非常低。在 30 d 时组 2 达到了 18.6%左右，相比于空白组明显提高了 4.4%（p<0.05）。可见空白组在后期产生的 PH4.6

可溶性氮的速率比组 2 要快。初始 12%TCA-SN 不到 2.5%。在 25 d 时，组 2 达到最高为 12.57%。组 2 相比空白组提高了 1.5%，相比最初提高了 6 倍。在储藏期内，前 10 d 增长非常地快速，在 20 d 后比较稳定。可见，干酪乳杆菌的大量添加对 PH4.6-SN 和 12% TCA-SN 的影响都较为显著（p<0.05）。

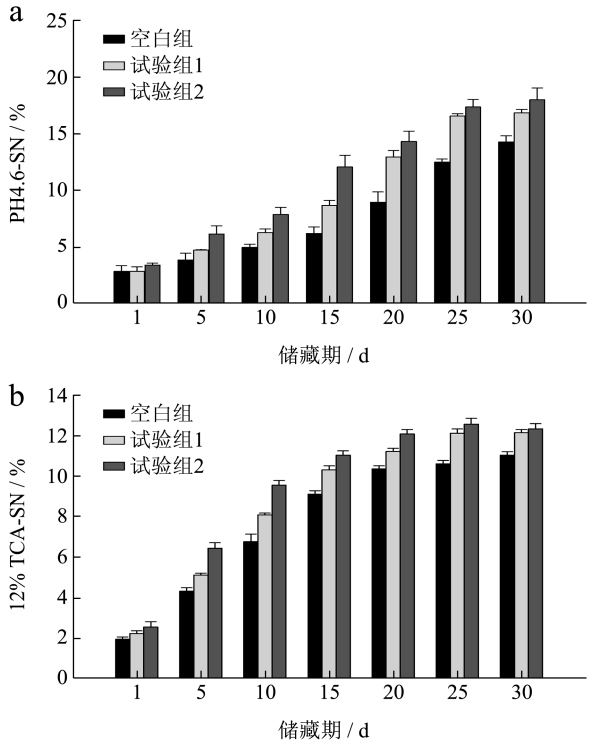


图 5 PH4.6-SN 和 12% TCA-SN 在储藏期内的变化曲线

Fig.5 PH4.6-SN and 12% TCA-SN curves of cottage cheese during storage

PH4.6-SN 表示干酪的初步水解的水溶性氮含量占总氮的百分数。12% TCA-SN 主要反映的是干酪蛋白的次级水解，提取物中多为短肽和氨基酸。本试验发现 PH4.6-SN 的增长趋势与还原力、DPPH 的清除能力相似；而 12% TCA-SN 与羟自由基清除率有类似的现象。Pritchard 研究[19]切达干酪发现，水溶性提取液的多肽浓度越高，DPPH 清除率越大，而且 10 ku 以上的多肽对 DPPH 自由基的清除能力更强。因此干酪的抗氧化性与一定范围分子量的多肽有很大关系。而且由图 5a 和图 5b 看出，通过添加益生菌的方式明显地提高农家干酪蛋白的水解程度，进而对农家干酪的抗氧化活性产生影响。

3 结论

通过将大量干酪乳杆菌悬液加入到农家干酪的这种方式，不但使干酪的益生菌数明显地增加，而且使干酪的抗氧化活性提高。农家干酪在储藏期内抗氧化性显著增强（p<0.05）。在第 30 d 时，DPPH 的清除能力达到最高，为 316 μM Trolox；还原力为 0.647。羟自由基的清除率在第 25 d 时最高达到 67.45%。在对第 20 d 的农家干酪的水溶性提取液的冷冻干燥粉末进行抗氧化性的评价时，发现抗氧化性比较强；选择第 20 d 的农家干酪进行模拟胃肠道试验，发现益生菌的活菌数下降了 5 $\log_{10}$cfu/g，最终为 7 $\log_{10}$cfu/g。可见通过这种方法向软质干酪中添加益生菌，具有一定的潜在的价值，但是在干酪的感官、品质、苦味以及抑菌性方面有待于进一步的研究。

参考文献

[1] 吴振,潘道东,严丽.干酪乳杆菌胞壁蛋白酶的分离及水解酪蛋白产物特性[J].食品科学,2011,21:37
WU Zhen, PAN Dao-dong, YAN Li. Purification of cell-envelop proteinases from *Lactobacillus casei* and biological activity of casein hydrolysates prepared with them [J]. Food Science, 2011, 21: 37

[2] Chang O K, Seol K, Jeong S, et al. Casein hydrolysis by *Bifidobacterium longum* KACC91563 and antioxidant activities of peptides derived therefrom [J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(9): 5544-5555

[3] Meira S M M, Daroit D J, Helfer V E, et al. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from southern Brazil and Uruguay [J]. Food Research International, 2012, 48(1): 322-329

[4] 任晓芬,潘道东,曾小群,等.胞壁蛋白酶(CEP)酶解对酪蛋白结构及功能特性的影响[J].现代食品科技,2013,29(11):2643-2648
REN Xiao-fen, PAN Dao-dong, ZENG Xiao-qun, et al. Effects of enzymatic hydrolysis with cell wall proteinase (CEP) on structural and functional properties of casein [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(11): 2643-2648

[5] 童伟.牛乳酪蛋白源抗氧化肽乳基料的制备及其特性研究[D].陕西:西北农林科技大学,2012
TONG Wei. Preparation and study of properties of antioxidant activity dairy ingredients from milk casein [D]. Shanxi: North West Agriculture and Forestry University, 2012

[6] 宋晓辰,彭新颜,李凤梅,等.植物乳杆菌NDC75017抗氧化活性研究[J].食品科学,2014,21:23
SONG Xiao-chen. PENG Xin-yan, LI Feng-mei, et al. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* NDC75017 [J]. Food Science, 2014, 21: 23

[7] Kuchroo C N, Fox P F. Soluble nitrogen in Cheddar cheese:

comparison of extraction procedures [J]. Milchwissenschaft. =Milk Science International, 1982

[8] Xiao Y, Wang L, Rui X, et al. Enhancement of the antioxidant capacity of soy whey by fermentation with *Lactobacillus plantarum* B1-6 [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 33-44

[9] Li W, Ji J, Chen X, et al. Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1 [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 102: 351-359

[10] Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, et al. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 945-948

[11] Tharmaraj N, Shah N P. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and propionibacteria [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(7): 2288-2296

[12] de Oliveira M E G, Garcia E F, de Oliveira C E V, et al. Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria [J]. Food Research International, 2014, 64: 241-247

[13] Abadía-García L, Cardador A, Del Campo S T M, et al. Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions [J]. International Dairy Journal, 2013, 33(2): 191-197

[14] Mushtaq M, Gani A, Shetty P H, et al. Himalayan cheese (Kalari/kradi): Effect of different storage temperatures on its physicochemical, microbiological and antioxidant properties [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015

[15] 陈敏,敖静,李博.分子量对酪蛋白多肽抗氧化活性的影响[J].食品工业科技,2012,33(9):95-99
CHEN Min, AO Jing, LI Bo. Effect of molecular weight on the antioxidant activity of casein peptide [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(9): 95-99

[16] Chandrasekara A, F Shahidi. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated *in vitro* digestion and microbial fermentation [J]. Journal of Functional Foods, 2012. 4(1): 226-237

[17] De Oliveira M E G, Garcia E F, de Oliveira C E V, et al. Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria [J]. Food Research International, 2014, 64: 241-247

[18] Maragkoudakis P A, Zoumpopoulou G, Miaris C, et al. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products [J]. International Dairy Journal, 2006, 16(3): 189-199

[19] Pritchard S R, Phillips M, Kailasapathy K. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese [J]. Food Research International, 2010, 43(5): 1545-1548